مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۳۵، شماره ۲، سال ۱۳۹۸

پاسخ ریشه‌زائی و برخی صفات بیوشیمیایی قلمه زیتون (*Olea europaea* L.) رقم کنسروالیا به اسید ایندول بوتیریک و پوترسین

Response of Rooting and Some Biochemical Traits of Cutting of Olive (*Olea europaea* L.) cv. Concervolia to Indole Butyric Acid and Puterscine

اسماعیل خالقی[۱] و سکینه علوی‌پور جلیعه[۲]

۱- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۱۴

چکیده

خالقی، ا. و علوی‌پور جلیعه، س. ۱۳۹۸. پاسخ ریشه‌زائی و برخی صفات بیوشیمیایی قلمه زیتون (*Olea europaea* L.) رقم کنسروالیا به اسید ایندول بوتیریک و پوترسین. **مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۳۵:** ۲۴۳-۲۲۱.

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید ایندول بوتیریک (۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون) و پوترسین (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون) بر برخی از صفات رویشی و بیوشیمیایی قلمه سخت ریشه‌زای زیتون رقم کنسروالیا آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل اسید ایندول بوتیریک × پوترسین بر درصد ریشه‌زایی، درصد کالوس‌زایی، تعداد ریشه، وزن ریشه، تعداد شاخه و وزن شاخه و همچنین بر میزان کربوهیدرات، میزان نیتروژن، نسبت کربن : نیتروژن (C:N)، آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز موثر بود. قلمه‌های تیمار شده با غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز (۰/۱۱۴ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر)، پلی‌فنل اکسیداز (۰/۱۴۰ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) و همچنین بالاترین درصد ریشه‌زایی را (۱۰۰٪) داشتند. در حالی که قلمه‌های تیمار شده با غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک + ۱۰۰ قسمت در میلیون پوترسین ۸۰ درصد ریشه‌زایی داشت. با توجه نتایج این پژوهش، برای افزایش ریشه‌دهی در قلمه سخت ریشه‌زای زیتون رقم کنسروالیای می‌توان از غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک یا از کاربرد توام ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک به همراه پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: زیتون، آنزیم، پروتئین، ریشه‌زایی، کربوهیدرات، نیتروژن.

نگارنده مسئول: khaleghi@scu.ac.ir تلفن: ۰۶۱۳۳۳۳۰۰۱۲

مقدمه

زیتــون (*Olea europaea* L.) یکــی از مهم‌ترین درختان میوه نواحی مدیترانه است کـه از نظر اقتصـادی بـه واسـطه تولیـد روغـن و نیـز خواص دارویـی آن و همچنـین تهیـه کنسـرو از اهمیـت و جایگـاه ویـژه‌ای برخـوردار می‌باشـد (Irannezhad *et al*., 2011). معمـولاً تکثیـر زیتون از روشهای جنسی و غیر جنسـی صـورت می‌گیرد. در روش غیر جنسی، تکثیر بـا اسـتفاده از اندامهای رویشی گیاه انجام می‌شود و گیاهان حاصـــل کـــاملاً شـــبیه والـــدین می‌باشـــند (Khoshkhoy, 2008).

زیتــون جــزو گیاهــان ســخت ریشــه‌زا است و قلمـه‌های زیتـون از نظـر اکسـین داخلـی احتمــالاً فقیــر بــوده و حــداقل اکســین لازم بــرای ریشــه‌زایی مناســب را در خــود ندارنــد (Turkoglu and Durmus, 2005). بیشتر ارقام زیتون بدون تیمار هورمونی مقـدار کمـی ریشـه تولیـد مـی‌کننـد و حتـی بعضـی هـم بـدون تیمــار هورمــونی ریشــه تولیــد نمی‌کننــد (Bordbar and Aboutalebi, 2012; Hosseini *et al*., 2008; Hartmann, 1946). بنابراین، برای به دسـت آوردن بیشـترین درصـد ریشه‌زایی، بایـد قلمـه‌های ایـن گیـاه را بـا مـواد تنظـیم کننـــده رشـــد گیـــاهی تیمـــار نمـــود (Denaxa *et al*., 2012).

عطــــــارزاده و همکــــــــــــاران (Atarzadeh *et al*., 2017) بـا بررسـی تـأثیر تیمارهای مختلف هورمونی (IBA با غلظت‌های ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ میلی‌گرم در لیتـر و NAA با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و مواد کمـک ریشــه‌زا (اسـید آسـکوربیک بـا غلظـت ۲٪ و پراکسـید هیـدروژن بـا غلظـت ۳/۵ درصـد) بـر ریشــه‌زایی قلمـه زیتـون ارقـام فیشـمی و شـیراز زیتون نشان دادند کـه پـس از ۱۱۰ روز کاشـت قلمه تیمار IBA با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت پنج ثانیه به همراه پراکسید هیـدروژن بـا غلظت ۳/۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه بیشترین تأثیر را بر افزایش ریشه‌زایی قلمه‌های زیتون داشت.

ال هتــــــــب و همکــــــــــــاران (Al Hattab *et al*., 2018) نیـز در بررسـی اثـر غلظت‌هــای ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گــرم بــر لیتــر IAA، IBA و NAA بـر ریشـه‌زایی قلمـه چهـار رقم زیتون نشان دادند که قلمه‌های تیمارشده بـا IBA بالاترین و قلمـه‌های تیمـار شـده بـا NAA کمترین درصـد ریشـه‌زایی را داشـتند. همچنـین غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA در قلمـه‌های زیتــون ارقــام عشراســی (Ashrasy) و خــدری (Khdary) موجـب ۸۵ درصـد ریشـه‌زایی شـد. در حالی که کاربرد غلظـت ۲۰۰۰ میلی‌گـرم بـر لیتــــر IBA بــــرای ریشــــه‌زایی ارقــــام کورســـاکی (Coursaky) و فرینتـــو (Frinto) پیشنهاد شد.

بررسی‌ها نشان داده است که اثر پلی‌آمین‌هـا بر افزایش ریشه‌زایی قلمـه‌ها بـا افـزایش فعالیـت پراکســیداز انتهــای قلمــه مــرتبط اســت (Rugini *et al*., 1997). به طوری که کریمی و یـدالهی (Karimi and Yadollahi, 2012) در

بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوترسین (۲ و ۴ میلی‌مولار)، IBA (۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر ریشه‌زایی قلمه‌های هیبرید GF677 مشاهده کردند که استفاده از IBA با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب بهبود ریشه‌زایی اما غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA دارای اثر سمی بر ریشه‌زایی و شاخساره قلمه‌ها بود. قلمه‌های تیمارشده با پوترسین، بیشترین تعداد ریشه و شاخه تولید کردند. همچنین مشخص شده است که استفاده خارجی IBA، پلی‌آمین‌ها (پوترسین) و پراکسید هیدروژن در ارقام زیتون بر توسعه سریعتر ریشه‌دهی موثر است (Rugini *et al*., 1997; Rugini *et al*., 1990).

هارتمن و همکاران (Hartmann *et al*., 2001) نیز گزارش دادند که پوترسین در ترکیب با IBA می‌تواند ریشه‌زایی را در فندق بهبود بخشد. راجینی و همکاران (Rugini *et al*., 1997) اظهار داشتند که پوترسین در ترکیب با IBA می‌تواند یک ترکیب مؤثر در جهت افزایش درصد ریشه‌زایی و القاء اولیه ریشه‌دهی باشد. نتایج بررسی اثر تیمارهای مختلف هورمونی IBA در ترکیب با مواد کمک ریشه‌زایی نظیر پراکسیدهیدروژن سه درصد و پوترسین یک میلی‌مولار حاکی از تأثیر معنی‌دار ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA به همراه پراکسید هیدروژن سه درصد به عنوان بهترین تیمار در افزایش درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، طول ریشه، قلمه‌های نیمه سخت سرخدار بود (Karimi and Moradi, 2017).

مطالعات گذشته تغییر در فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز و پراکسیداز طی فرآیند ریشه‌زایی را ذکر کرده‌اند (Yilmaz *et al*., 2003; Ludwig-Muller, 2003). آنزیم پلی فنول اکسیداز در اکسیداسیون فنل نقش داشته و انرژی لازم برای تقسیم سلولی و تمایز سلولی در اندام‌زایی نمونه‌ها را فراهم می‌آورد (Satish *et al*., 2008). پراکسیداز نشانگر فازهای القایی وآغازین تشکیل ریشه در گیاهان است (Kevresan *et al*., 2007; Yilmaz *et al*., 2003).

زانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2013) در مطالعات خود دریافتند که پارامترهای فیزیولوژیکی مانند مقدار پروتئین محلول، فعالیت آنزیم پراکسیداز، قند محلول و نشاسته، نسبت قند به نیتروژن و نسبت کربن به نیتروژن (C/N) و همچنین مقدار IAA، ABA و نسبت IAA/ABA بر توانایی ریشه‌زایی قلمه‌های داوودی تأثیر زیادی داشت. به نظر می‌رسد که اثر مثبت مواد کمک‌کننده و هورمون‌ها بر فرایند ریشه‌زایی موجب افزایش ریشه‌دهی قلمه‌ها از طریق بهبود عوامل مؤثر بر ریشه‌زایی می‌شود.

این پژوهش با هدف بررسی غلظت‌های مختلف اسید ایندول بوتیریک (IBA) و پوترسین بر درصد ریشه‌زایی و برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی قلمه زیتون رقم کنسروالیا سخت ریشه‌زای اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید ایندول بوتیریک (IBA) (صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون) و پوترسین (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون) بر فرآیند ریشه زایی و روند تغییرات بیوشیمیایی قلمه‌های خشبی و برگدار زیتون رقم کنسروالیا آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. بدین منظور ابتدا قلمه‌های زیتون رقم کنسروالیا از کلکسیون باغ زیتون گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز (در حاشیه غربی رودخانه کارون با مختصات جغرافیایی ۳۱ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی از نصف النهار گرینویج با ارتفاع حدود ۲۲ متر از سطح دریای آزاد) تهیه شد.

برای هر تیمار ۱۰۰ قلمه برگدار کاملاً سالم و با قطر و طول یکسان (۱۵ سانتی‌متر) در ابتدای اسفند ۱۳۹۵ تهیه و سپس تحت تیمارهای آزمایش قرار گرفتند. بدین منظور قبل از کاشت قلمه‌ها در بستر کشت کوکوپیت و پرلایت و پس از تهیه غلظت‌های مختلف از IBA (صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون) و پوترسین (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون) (تهیه شده از شرکت مرک آلمان)، بر حسب سطوح تیماری، ابتدا تعدادی از قلمه‌ها به روش غوطه‌وری به مدت ۳۰ ثانیه در غلظت‌های تهیه شده از IBA قرار گرفتند و تعدادی از قلمه‌های زیتون نیز با استفاده از یک میکرواسپری دو بار به فاصله ۲۴ ساعت در ساعت ۸ صبح و به مدت یک دقیقه توسط غلظت‌های مختلف پوترسین تهیه شده تیمار شدند و همچنین تعدادی از قلمه‌ها نیز تحت تیمار توام IBA و پوترسین قرار گرفتند. از آب مقطر به عنوان تیمار شاهد استفاده شد.

به منظور تهیه غلظت‌های مختلف اکسین از نمکهای پتاسیمی و برای غلظتهای مختلف پوترسین از پودر آن به مقدار لازم وزن شد و در ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر سود یک دهم نرمال حل و سپس با آب مقطر به حجم موردنظر رسانده شد. سپس، قلمه‌ها به مدت ۹۰ روز در شرایط میست (مه‌پاش) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز با دمای ۲۵/۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بالای ۸۰ درصد نگهداری شدند.

خصوصیات مورفولوژیکی نظیر درصد ریشه‌زایی، کالوس‌زایی، تعداد ریشه، طول ریشه، وزن تر ریشه، تعداد شاخه، تعداد برگ، طول شاخه و وزن تر شاخساره و همچنین صفات بیوشیمیایی نظیر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، میزان کربوهیدرات، پروتئین و درصد نیتروژن بخش انتهای قلمه اندازه‌گیری و مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری نیتروژن کل از روش کجلدال استفاده شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل از روش اریگوین و همکاران

(Irigoyen *et al*., 1992) استفاده شد. در نهایت، جذب نمونه‌ها (و استانداردها) در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج مرئی فرابنفش قرائت گردید. برای استخراج عصاره خام، از روش سوفو و همکاران (Sofo *et al*., 2004) استفاده شد. در پایان فاز بالایی برای اندازه‌گیری آنزیمی برداشته شد. میزان پروتئین محلول کل به روش بردفورد (Bradford, 1976) تعیین گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش همدا و کلین (Hemeda and Kelin, 1990) انجام شد. بدین منظور، فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ۲۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر تعیین گردید. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز به روش کار و میشرا (Kar and Mishra, 1976) سنجش شد و فعالیت آنزیم براساس تغییر شدت رنگ پورپوروگالین تولید شده در طول موج ۴۲۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ۱۲ میلی‌مولار بر سانتی‌متر تعیین گردید.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنوف نرمال بودن داده‌ها بررسی شد. در مورد داده‌های که به صورت درصد بودند از تبدیل زاویه‌ای استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج و یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات مورفولوژیکی

تجزیه واریانس داده‌ها برای برخی از صفات مورفولوژیکی قلمه زیتون رقم کنسروالیا در پایان ۹۰ روز نشان داد که بین غلظت‌های مختلف IBA از نظر ریشه زایی، تعداد ریشه، طول ریشه و وزن تر ریشه در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱). بین غلظت‌های مختلف پوترسین فقط از نظر وزن تر شاخساره و تعداد شاخه در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. علاوه براین مشخص شد که اثر متقابل IBA × پوترسین بر ریشه‌زایی، کالوس‌زایی و تعداد ریشه در سطح احتمال یک درصد و بر وزن تر ریشه، تعداد و وزن تر شاخساره در سطح احتمال پنج درصد موثر بود (جدول ۱).

درصد ریشه زایی در قلمه های تیمار نشده (شاهد) و در قلمه های تیمار شده با ۱۰۰ قسمت در میلیون ام پوترسین صفر بود (جدول ۲). همچنین، درصد کالوس‌زایی در تیمار شاهد، به میزان ۲۰٪ گزارش شد. با افزایش غلظت پوترسین و IBA تغییرات قابل توجهی در درصد ریشه زایی و کالوس‌زایی مشاهده شد. به گونه‌ای که در قلمه‌های تیمار شده با ۱۰۰ قسمت در میلیون پوترسین اگرچه ریشه‌زایی صفر بود، درصد کالوس‌زایی (۴۰٪) نسبت به تیمار شاهد دو برابر افزایش یافت

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر اسید ایندول بوتیریک و پوترسین بر برخی از صفات مورفولوژیکی قلمه زیتون رقم کنسروالیا

Table 1. Analysis of variance of IBA and puterscine effects on some morphological traits of cutting of olive cv. Concervolia

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	MS میانگین مربعات								
			ریشه‌زایی Rooting	کالوس‌زایی Callusing	تعداد ریشه Root number	طول ریشه Root length	وزن تر ریشه Root fresh weight	تعداد شاخه Shoot number	تعداد برگ Leaf number	طول شاخه Shoot length	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight
Block	بلوک	2	0.00001^{ns}	0.0310^{ns}	0.0056^{ns}	0.00009^{ns}	0.0008^{ns}	0.0960^{ns}	0.0064^{ns}	0.0146^{ns}	0.0006^{ns}
IBA	ایندول بوتیریک اسید	2	0.4021**	0.0932^{ns}	0.1224**	0.0852**	0.0384**	0.0447^{ns}	0.0044^{ns}	0.0150^{ns}	0.0159^{ns}
Puterscine (Put.)	پوترسین	2	0.0310^{ns}	0.0310^{ns}	0.0107^{ns}	0.0112^{ns}	0.0139^{ns}	0.6237*	0.0544^{ns}	0.0344^{ns}	0.0322*
IBA×Put.	ایندول بوتیریک اسید × پوترسین	4	0.0621**	0.1243**	0.0460**	0.0141^{ns}	0.0204*	0.5011*	0.0444^{ns}	0.0250^{ns}	0.0202*
Error	خطا	16	0.0466	0.0544	0.0095	0.0096	0.0061	0.1200	0.0155	0.0137	0.0054
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات		15.23	14.50	10.99	9.98	10.35	5.20	9.83	11.34	8.96

* و**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns: غیر معنی‌دار.

* and** : Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

ns: Not- significant.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف اسید ایندول بوتیریک و پوترسین بر برخی از صفات مورفولوژیکی قلمه زیتون رقم کنسروالیا

Table 2. Mean comparison of effect of IBA and puterscine different concentrations on some morphological traits of cutting of olive cv. Concervolia

ایندول بوتیریک اسید (قسمت در میلیون) IBA (ppm)	پوترسین (قسمت در میلیون) puterscine (ppm)	درصد ریشه‌زایی Rooting (%)	درصد کالوس‌زایی Callusing (%)	تعداد ریشه Root number	وزن تر ریشه (گرم) Root fresh weight (g)	تعداد شاخه Shoot number	وزن تر شاخساره (گرم) Shoot fresh weight (g)
0	0	0.00e	20.00c	00.00c	0.00c	2.500ab	0.117bc
	100	0.00e	40.00b	00.00c	0.00c	1.667c	0.167bc
	200	20.00d	20.00c	0.250c	0.001c	1.333c	0.087c
2000	0	20.00d	20.00c	1.333c	0.003c	0.667d	0.130c
	100	40.00c	40.00b	10.500b	0.087b	0.333d	0.083c
	200	40.00c	40.00b	10.00b	0.047b	3.333a	0.277b
4000	0	100.00a	00.00d	28.333a	0.245a	0.333d	0.040d
	100	80.00b	00.00d	23.00a	0.260a	3.00a	0.243b
	200	40.00c	60.00a	1.333c	0.001c	2.333ab	0.530a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حروف یکسان می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

(جدول ۲). از سوی دیگر، در غلظت ۲۰۰ قسمت در میلیون پوترسین، افزایش قابل توجه درصد ریشه‌زایی (۲۰٪) نسبت به غلظت پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون مشاهده شد.

بیشترین درصد ریشه‌زایی مربوط به قلمه های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA (۱۰۰٪) بود و به دلیل اینکه، در پایان آزمایش تمام قلمه‌ها تولید ریشه کرده بودند، درصد کالوس‌زایی صفر گزارش شد (جدول ۲). بیشترین درصد کالوس‌زایی (۶۰٪) نیز در تیمار ۴۰۰۰ قسمت در میلیون توام با اسپری پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون بدست آمد، حال آنکه در این تیمار میزان ریشه‌زایی قلمه‌ها ۴۰٪ بود. اگرچه در کاربرد غلظت ۲۰۰۰ قسمت در میلیونIBA درصد ریشه‌زایی و کالوس‌زایی ۲۰٪ بود اما با افزایش غلظت پوترسین به ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون در کاربرد همزمان با ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA درصد ریشه‌زایی و کالوس‌زایی نیز به میزان دو برابر افزایش یافت و مجموع ریشه‌زایی و کالوس‌زایی به ۸۰٪ رسید (جدول ۲).

هارتمن و همکاران (Hartman *et al.*, 2001) اظهار داشتند که در اکثر موارد تشکیل کالوس و ریشه مستقل از یکدیگر می‌باشند. با این حال، در برخی از گونه‌ها، شکل‌گیری کالوس به عنوان یک پیشگام تشکیل ریشه‌های جانبی شناخته شده است. به طور کلی با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که تیمار IBA و پوترسین علاوه بر تأثیر بر درصد ریشه‌زایی قلمه زیتون رقم کنسروالیا، بر زمان کالوس‌زایی و ریشه‌زایی نیز تأثیر داشتند. به بیان دیگر، از آن‌جایی که تشکیل کالوس به عنوان مقدمه‌ای برای تشکیل ریشه در قلمه به حساب می‌آید (Hartman *et al.*, 2001). در نتیجه می‌توان اظهار داشت که تیمار IBA و پوترسین بر تشکیل کالوس و در نهایت ریشه‌زایی نیز تأثیر به سزایی داشت.

بین تعداد و وزن تر ریشه قلمه‌های تیمار شده با پوترسین ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون به تنهایی و تیمار شده با غلظت ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به تنهایی و تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA توام با اسپری پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون با قلمه‌های شاهد تفاوت معنی‌دار وجود نداشت و این تیمارها کمترین تعداد و وزن تر ریشه را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). در حالی که بیشترین تعداد و وزن تر ریشه در تیمار ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA (تعداد ریشه ۲۸/۳۳ و وزن تر ریشه ۰/۲۴۵ گرم) و کاربرد همزمان ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به همراه پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون (تعداد ریشه ۲۳ و وزن تر ریشه ۰/۲۶۰ گرم) بدست آمد.

در بررسی اثر غلظت ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA نیز اگرچه به طور میانگین تعداد ریشه ۱/۳۳ و وزن تر ریشه ۰/۰۰۳ گرم بود اما در کاربرد همزمان با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون پوترسین، تعداد ریشه به ترتیب ۸۷/۳۳

و ۸۶/۶۷ درصد و وزن تر ریشه به ترتیب ۹۶/۵۵ و ۹۳/۶۱ درصد افزایش یافت (جدول ۲). بیشترین طول ریشه در قلمه‌های تیمار شده با اسید ایندول بوتیریک در مقایسه با قلمه‌های تیمار نشده بدست آمد هر چند که از نظر طول ریشه در قلمه‌های تیمار شده با ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما از تیمار شاهد بیشتر بود. (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف اسید ایندول بوتیریک بر طول ریشه و پروتئین انتهای قلمه زیتون رقم کنسروالیا

Table 3. Mean comparison of effect of different concentrations of IBA on root length and protein of the end of cutting of olive cv. Concervolia

اسید ایندول بوتیریک (قسمت در میلیون) IBA (ppm)	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Protein (mg g^{-1}_{FW})
0	0.00b	15.890a
2000	1.72a	11.518b
4000	2.21a	9.543c

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

ریشه‌دهی موفق نه تنها با درصد ریشه‌زایی بلکه از طریق تعداد ریشه تشکیل شده نیز ارزیابی می‌شود (Hartmann, 1946). مطالعات بیان کردند که استفاده از IBA خارجی بر غلظت IAA درونی مؤثر است. به طوری که IBA اسپری شده سبب افزایش بیوسنتز IAA و همچنین احتمالاً IBA خارجی می‌تواند به طور مستقیم به IAA تبدیل شود (Epstein *et al*., 1993). همچنین، ثابت شده است که IBA دارای اثر اکسینی ضعیف می‌باشد و از آنجایی که در گیاه آنزیم اسید ایندول استیک اکسیداز قادر به تجزیه IBA نیست درنتیجه در غلظت‌های بالا غیرسمی بوده و دارای اثر بالایی بر ریشه‌زایی (طویل شدن سلول و تقسیم سلولی) است (Hartmann *et al*., 2001; Arteca, 1996; Weaver, 1972).

نتایج این پژوهش نشان داد که اگرچه در قلمه‌های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک ۱۰۰درصد ریشه‌زایی حاصل شد اما در قلمه‌های تیمار شده با غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک به همراه پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون نیز ۸۰ درصد ریشه‌زایی مشاهده شد و تعداد ریشه در اینگونه قلمه‌ها در مقایسه با قلمه‌های تیمار شده با غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید

ایندول بوتیریک به همراه پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون تفاوت چشمگیری داشت (جدول ۲).

بررسی‌ها نشان داده است که اثر پوترسین در القاء کالوس‌زایی و ریشه‌زایی ناشی از اثر تحریک‌کنندگی بر روی تقسیم سلولی است (Palavan and Galston, 1982). در واقع کاربرد پلی‌آمین‌هایی مانند پوترسین باعث افزایش سنتز پلی‌آمین‌های درونی بافت گیاه، افزایش فعالیت میتوزی و در نهایت افزایش ریشه‌های اولیه و جانبی می‌شود (Yonesabadi *et al*., 2018) که می‌تواند علت بهبود ریشه‌زایی با افزایش غلظت پوترسین تا غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون باشد. نکته لازم به ذکر دیگر این است که منحنی واکنش به میزان مواد تنظیم‌کننده رشد زنگوله‌ای شکل می‌باشد بدین معنا که در غلظت‌های پایین، اثر این مواد حالت تحریک کننده داشته و سپس به حداکثر خود می‌رسد و در غلظت‌های بیشتر از حد، حالت بازدارندگی خواهد داشت (Arteca, 1995).

نتایج این پژوهش نشان داد که تا غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک بر درصد ریشه‌زایی در قلمه‌های تیمار شده افزوده شد. در حالیکه حد مطلوب در مورد هورمون پوترسین غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون توام با غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک بود. بنابراین اثر بازدارندگی غلظت‌های مورد استفاده جهت ریشه‌زایی قلمه باید مورد توجه قرار گیرد.

در ارزیابی ریشه‌زایی قلمه‌های سخت ریشه‌زای زیتون رقم تخم کبکی (Tokhmkabki) و روغنی (Roghani) در مدت چهار ماه نیز محققان نشان دادند که پوترسین می‌تواند یک ماده مفید برای افزایش درصد ریشه‌زایی و کیفیت ریشه در قلمه‌های ارقام زیتون باشد (Aslmoshtaghi *et al*., 2014). راجینی و همکاران (Rugini *et al*., 1997) افزایش کم اما معنی‌دار تعداد ریشه در ریزنمونه‌های زیتون تیمار شده با پوترسین در مراحل اولیه ریشه‌زایی را گزارش کردند که با نتایج ما همخوانی داشت. هاتاب و همکاران (Al Hattab *et al*., 2018) نیز گزارش دادند که غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA بهترین روش برای ریشه زایی قلمه‌های نیمه سخت ریشه‌زای زیتون رقم عشرسی (Ashrasy)، خدری (Khdary)، کورساکی (Coursaky) و فرینتو (Frinto) بود و در مقایسه با IAA تاثیر بالایی بر تعداد ریشه‌ها و طول آنها نشان داد.

بیشترین تعداد شاخه (۳/۳۳) در غلظت ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به همراه پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون مشاهده شد. بین تعداد شاخه تشکیل شده در قلمه‌های زیتون تیمار شده با پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون (۱/۶۷) و ۲۰۰ قسمت در میلیون (۱/۳۳) تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد، اما تعداد شاخه کمتری در قلمه‌های تیمارشده در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). همچنین کمترین تعداد

شاخه مربوط به تیمارهای ۲۰۰۰ قسمت در میلیون (۰/۶۷) و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون (۰/۳۳) IBA به تنهایی و کاربرد توأم ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA و پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون (۰/۳۳) مشاهده شد.

بیشترین وزن تر شاخساره در تیمار قلمه‌ها با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به همراه پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون (۰/۵۳۰ گرم) بدست آمد و کمترین وزن تر شاخساره در کاربرد ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA مشاهده شد (جدول ۲). در قلمه‌هایی که فقط با IBA تیمار شده بودند با افزایش غلظت IBA، وزن تر شاخساره نسبت به تیمار شاهد کاهش قابل توجهی یافت. همچنین وزن تر شاخساره بین قلمه‌های تیمار شده با پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون (۰/۱۶۷ گرم) و قلمه‌های تیمار نشده (شاهد) (۰/۱۱۷ گرم) تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد، اما با افزایش غلظت پوترسین به ۲۰۰ قسمت در میلیون وزن تر شاخساره قلمه‌ها به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد (۰/۰۸۷ گرم) (جدول ۲).

در مطالعه‌ای مشاهده شد که تیمار قلمه‌های نیمه چوبی زیتون ارقام فرانتویو (Frantoio) و جنتیل دی لارینو (Gentile di larino) با IBA ۴۰۰۰ قسمت در میلیون و همچنین تیمار پراکسید هیدروژن و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA موجب تسهیل و افزایش ریشه‌دهی شد (Sebastiani and Tognetti, 2004). لازاج و همکاران (Lazaj *et al*., 2015) نیز به منظور بهبود ریشه‌زایی زیتون رقم کالینجوت (Kalinjot) از غلظت‌های مختلف ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ قسمت در میلیون IBA استفاده و مشاهده کردند که غلظت ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA نسبت به دیگر غلظت‌های مورد استفاده درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، طول و وزن تر و خشک ریشه بالاتری را داشت. گزارشات مختلف علاوه بر نقش پلی‌آمین‌ها بر تحریک تقسیم سلولی و تأثیر آن‌ها بر ریشه‌زایی (Yonesabadi *et al*., 2018)، به نقش آرژنین و آنزیم‌های بیوسنتزی مرتبط با آن‌ها به عنوان پیش‌ساز پلی‌آمین‌ها اشاره کرده‌اند و این عامل را دلیل افزایش تعداد و وزن تر ریشه و شاخه‌ها دانستند (Paschalidis and Roubelakis-Angelakis, 2005).

خصوصیات بیوشیمیایی

اثر اسید ایندول بوتیریک بر کلیه صفات بیوشیمیایی بجز آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بین غلظت‌های مختلف پوترسین نیز از نظر کلیه صفات بیوشیمیایی بجز آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. علاوه براین اثر متقابل IBA × پوترسین بر میزان کربوهیدرات، نیتروژن، نسبت کربن : نیتروژن (C:N)، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز انتهای قلمه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر ایندول بوتیریک اسید و پوترسین بر برخی از صفات بیوشیمیایی قلمه زیتون رقم کنسروالیا

Table 4. Analysis of variance of IBA and puterscine effects on some biochemical traits of cutting of olive cv. Concervolia

			MS میانگین مربعات					
S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	کربوهیدرات Carbohydrate	پروتئین انتهای قلمه Protein of the end of cutting	نیتروژن Nitrogen	نسبت کربن: نیتروژن C : N	آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme	آنزیم پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase enzyme
Block	بلوک	2	0.0615^{ns}	0.1971^{ns}	0.00004^{ns}	0.0019^{ns}	0.0001^{ns}	0.0002^{ns}
IBA	اسید ایندول بوتیریک	2	10.9406**	2.5166**	0.0005**	0.3925**	0.0013*	0.0038**
Puterscine (Put.)	پوترسین	2	0.1447*	2.2261**	0.0382**	0.0553**	0.0007^{ns}	0.0008**
IBA×Put.	ایندول بوتیریک اسید × پوترسین	4	0.8894**	0.2188^{ns}	0.0266**	0.0771**	0.0018**	0.0006**
Error	خطا	16	0.0266	0.1147	0.00001	0.0009	0.0003	0.00006
C. V. (%)	درصد ضریب تغییرات		3.22	5.84	3.25	2.20	2.35	1.05

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns: غیر معنی‌دار.

* and** : Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

ns: Not- significant.

با افزایش غلظت IBA از مقدار پروتئین انتهای قلمه کاسته شد. به طوریکه میزان پروتئین در تیمار شاهد، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به ترتیب ۱۵/۸۹، ۱۱/۵۱ و ۹/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود (جدول ۵). اسید ایندول بوتیریک (IBA) در شکل‌گیری ریشه‌های جانبی و نابجا از کالوس نقش دارد و علت کاهش پروتئین در انتهای قلمه زیتون احتمالا به دلیل دخالت پروتئین‌های مؤثر در ریشه‌زایی می‌باشد (Ludwig-Muller *et al.*, 2005).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر میزان پروتئین انتهای قلمه زیتون رقم کنسروالیا

Table 5. Mean comparison of effect of different concentrations of puterscine on the protein of the end of cutting of olive cv. Concervolia

پوترسین (قسمت در میلیون) Puterscine (ppm)	پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن تر) Protein (mg g^{-1}_{FW})
0	14.775a
100	7.859b
200	14.315a

میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan’s Multiple Range Test.

از نظر تاثیر پوترسین بر مقدار پروتئین انتهای قلمه نیز مشخص شد که پوترسین سبب افزایش پروتئین انتهای قلمه شد. میزان پروتئین انتهای قلمه‌های شاهد (۱۴/۷۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با قلمه‌های تیمارشده بوسیله پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون (۱۴/۳۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) تفاوت معنی‌دار وجود نداشت، اما بالاتر از میزان پروتئین قلمه‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون پوترسین بود (جدول ۵). به نظر می‌رسد دلیل آن نقش پروتئین در فرآیند تشکیل کالوس‌زایی و ریشه‌زایی و واکنش‌های مؤثر در این فرآیند باشد (Clowes, 1958). همچنین گزارش شده است که بسیاری از ژن‌های تنظیم‌کننده مستقل القاءکننده اکسین داخلی مانند ALF4 پروتئین متمرکز هسته‌ای در توسعه ریشه جانبی دخالت دارند. لودویگ مولر و همکاران (Ludwig-Muller *et al.*, 2005) نیز گزارش کردند که احتمالا نقش پروتئین تنظیم‌کننده دیگری به نام هیستیدین تریاد (HIT= Histidine Triad) در تشکیل ریشه‌های جانبی به صورت دخالت در تنظیم چرخه سلولی یا مسیرهای انتقال علائم باشد و آنرا علت کاهش پروتئین در انتهای قلمه زیتون کنسروالیا دانستند.

کمترین میزان کربوهیدرات (۴/۶۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین درصد نیتروژن (۱/۳۳) و میزان فعالیت آنزیم

پراکسیداز (۰/۱۱۶ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۶). علاوه براین در قلمه های تیمار شده با ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA دیده شد که با افزایش غلظت پوترسین بر میزان کربوهیدرات قلمه افزوده شد. به طوری که بیشترین میزان کربوهیدرات (۳۰/۸۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA توام با ۲۰۰ قسمت در میلیون پوترسین بود (جدول ۶).

کربوهیدرات به عنوان منبع انرژی موردنیاز برای سنتز ماکرومولکول‌های درگیر در فرآیند تشکیل ریشه نقش دارند (Druege *et al.*, 2000). از سویی دیگر، دسترسی و حرکت کربوهیدرات به سمت انتهای قلمه می‌تواند عامل مهمی در پتانسیل ریشه‌زایی قلمه‌های زیتون باشد. همچنین نتایج اصل مشتاقی و شاهسوار (Aslmoshtaghi and Shahsavar, 2010) نشان داد که مقدار کربوهیدرات، فروکتوز و گالاکتوز و نسبت کربن: نیتروژن (C:N) بالاتر با ریشه‌زایی بالا در قلمه‌های زیتون ارتباط مستقیمی داشت.

کربوهیدرات به عنوان منبع انرژی برای تقسیم سلولی در ریشه‌زایی نیز می‌باشد (Reuveni and Raviv, 1981) که رابطه بین کربوهیدرات‌ها و ایجاد ریشه‌های جانبی در قلمه بحث برانگیز بوده است. از سویی دیگر برخی از محققان اظهار داشتند که ظرفیت ریشه‌زایی بسیاری از قلمه‌ها با مقدار کربوهیدرات آنها مرتبط است و کربوهیدرات‌های قند کاهش‌دهنده آزاد و کربوهیدرات‌های ذخیره شده برای تشکیل ریشه به عنوان مواد انرژی و ساختار سلولی برای القاء آغازین‌های ریشه مهم هستند (Bartolini *et al.*, 2008). برخی از محققان اظهار کرده‌اند که دیگر عوامل بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و ساختاری و مقدار اکسین‌های درون زا نیز ممکن است در ایجاد ریشه‌های جانبی قلمه دخالت داشته باشند (Denaxa *et al.*, 2012).

با افزایش غلظت پوترسین در قلمه‌های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA از میزان نیتروژن قلمه کاسته شد در حالیکه در قلمه‌های تیمار شده با ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA با افزایش غلظت پوترسین بر میزان نیتروژن قلمه افزوده شد (جدول ۶). اثر مقدار نیتروژن بافت بر شروع و توسعه ریشه قلمه‌های ساقه بستگی به عوامل متعددی نظیر دسترسی کربوهیدرات، نسبت کربن : نیتروژن (C:N) و واکنش بین هورمون‌های درونی دارد. اعتقاد بر این است که عملکرد نیتروژن در تشکیل ریشه قلمه‌ها به نقش آن در سنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئین مرتبط می‌باشد. از سوی دیگر، توزیع نیتروژن در قلمه‌های ساقه در بین ارقام مختلف در طی روند ریشه‌زایی متفاوت گزارش شده است (Hartmann *et al.*, 2001). نتایج ایزدی و همکاران (Izadi *et al.*, 1996) نشان داد که ظرفیت ریشه‌زایی به مقدار نیتروژن برگ‌ها و

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف ایندول بوتیریک اسید و پوترسین بر برخی از صفات بیوشیمیایی قلمه زیتون رقم کنسروالیا

Table 6. Mean comparison of effect of different concentrations of IBA and puterscine on some biochemical traits of cutting of olive cv. Concervolia

اسید ایندول بوتیریک (قسمت در میلیون) IBA (ppm)	پوترسین (قسمت در میلیون) Puterscine (ppm)	کربوهیدرات (میلی گرم بر گرم وزن تر) Carbohydrate (mgg_{FW}^{-1})	درصد نیتروژن Nitrogen (%)	نسبت کربن : نیتروژن C : N	آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) Peroxidase enzyme ($\mu mol\ min^{-1}\ g_{FW}^{-1}$)	آنزیم پلی فنل اکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) Polyphenol oxidase enzyme ($\mu mol\ min^{-1}\ g_{FW}^{-1}$)
0	0	4.680a	1.33a	31.31b	0.116a	0.083d
	100	36.718b	0.72g	51.34a	0.057c	0.050g
	200	30.392c	1.20c	25.39c	0.027e	0.068f
2000	0	26.00d	1.07e	24.35c	0.008f	0.110b
	100	25.032d	0.85f	29.45b	0.090b	0.100b
	200	30.828c	1.24b	24.79c	0.040cd	0.075e
4000	0	10.544g	1.26b	8.33f	0.114a	0.140a
	100	14.123f	1.15d	12.31e	0.062c	0.095c
	200	19.540e	0.87f	22.41d	0.066c	0.158a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

ساقه‌ها ارتباطی ندارد. نیتروژن برای سنتز ترکیبات مختلف نیتروژنی مورد نیاز است، اما تأثیر مثبت نیتروژن در ریشه‌زایی نیز ممکن است بر مقدار کربوهیدرات، تخصیص، توزیع و متابویسم در نظر گرفته شود (Porfirio *et al*., 2016; Dag *et al*., 2012).

در قلمه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA در مقایسه با قلمه‌های تیمار نشده (شاهد) نسبت کربن : نیتروژن (C:N) کمتر بود. همچنین در قلمه‌های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA، استفاده از پوترسین موجب افزایش مقدار این شاخص گردید. به طوریکه نسبت کربن : نیتروژن (C:N) در قلمه‌های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA + ۲۰۰ قسمت در میلیون پوترسین نسبت به قلمه‌های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA، ۲/۶۸ برابر بیشتر بود (جدول ۶). نسبت کربن : نیتروژن (C:N) انتهای قلمه زیتون رقم کنسروالیا وجود ارتباط معکوس با درصد ریشه‌زایی را نشان داد که با فرضیه غالب محدودیت ریشه‌زایی مبتنی بر ذخایر کم کربوهیدرات و نسبت کربن : نیتروژن (C:N) مطابقت داشت (Druege *et al*., 2000).

در تیمار پوترسین ۱۰۰ قسمت در میلیون به تنهایی که کمترین درصد ریشه‌زایی بود، بیشترین نسبت کربن : نیتروژن (C:N) و در تیمار ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به تنهایی، بیشترین درصد ریشه‌زایی و کمترین نسبت کربن : نیتروژن (C: N) (۸/۳۴) گزارش شد (جدول ۲ و ۶). بین تیمار ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA، پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون و تیمار قلمه‌های با ۲۰۰۰ قسمت در میلیون IBA به همراه پوترسین ۲۰۰ قسمت در میلیون در برای نسبت کربن : نیتروژن (C:N) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. این در حالی بود که اگرچه در تیمار قلمه‌ها با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA نسبت کربن : نیتروژن (C:N) برابر با ۸/۳۳ بود (جدول ۶). در کاربرد توأم و با افزایش غلظت پوترسین نسبت کربن : نیتروژن (C:N) افزایش معنی‌داری داشت، ولی درصد ریشه‌زایی، تعداد و وزن تر ریشه به صورت قابل توجهی کاهش و تعداد و وزن تر شاخساره افزایش چشمگیر و معنی‌داری را داشت (جدول ۲).

ایزدی و همکاران (Izadi *et al*., 1996) نشان دادند که در قلمه‌های زیتون اگرچه نسبت کربن : نیتروژن (C:N) گیاه مادری در توانایی ریشه‌زایی اهمیت دارد، اما این نسبت در پتانسیل ریشه‌زایی قلمه‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. تغییرات در توزیع کربوهیدرات به شدت به نیتروژن کل نسبت داده شد و به نظر می‌رسد که تغییر در توزیع نیتروژن احتمالاً ناشی از تجمع و انتقال نیتروژن می‌باشد (Scheible *et al*., 1997). به طور کلی، بیوسنتز کربوهیدرات و آسمیلاسیون نیتروژن به اسیدهای آمینه به دلیل دخالت در کاهش کربن و انرژی به عنوان فرآیندهای رقابتی بالقوه

می‌باشند (Izadi *et al.*, 1996). مطالعات برخی محققان نیز حاکی از آن بود که افزایش میزان تولید نیتروژن باعث کاهش سطوح نشاسته و افزایش غلظت کربوهیدرات در برگ‌های قلمه‌های داوودی شد (Druege *et al.*, 2000).

بین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز قلمه شاهد (۰/۱۱۶ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) و تیمارشده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA (۰/۱۱۴ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۶). در قلمه‌های تیمار شده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA ، محلول‌پاشی قلمه‌ها با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون پوترسین موجب کاهش مقدار آنزیم پراکسیداز شد. گزارش شده است که پراکسیدازهای گیاهی بر متابولیسم اکسین و چوبی شدن دیواره سلولی در حضور فنل اثر می‌گذارند (Rout, 2006). سایر محققان نیز بیان کرده‌اند که فعالیت پراکسیداز در طول تقسیم سلولی و تشکیل اولیه آغازین‌های ریشه افزایش می‌یابد. در واقع، پراکسیداز به عامل- یارهای لازم برای شروع تشکیل ریشه کمک می‌کند (Gur *et al.*, 1988). روت (Rout, 2006) نیز بیان کرد که قلمه‌های چای (*Camellia sinensis* L.) تیمار شده با IBA از فعالیت پراکسیداز بالاتر نسبت به شاهد برخوردار بودند و فعالیت پراکسیداز در مراحل اولیه ریشه‌زایی، نشانه خوبی از موفقیت در فرآیند ریشه‌زایی بود.

در مورد آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز نتایج مشابه آنزیم پراکسیداز بود به گونه‌ای که در گیاهان تیمار شده با ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک مقدارآنزیم پلی فنل اکسیداز بیشتر از گیاهان تیمار نشده (شاهد) بود (جدول ۶). علاوه براین مشخص شد که محلول‌پاشی با پوترسین موجب کاهش مقدار آنزیم پلی فنل اکسیداز شد. در واقع در قلمه‌های تیمار شده با ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ قسمت در میلیون اسید ایندول بوتیریک، با افزاش غلظت پوترسین به ۱۰۰ و۲۰۰ قسمت در میلیون از میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز کاسته شد.

یلماز و همکاران (Yilmaz *et al.*, 2003) گزارش دادند که بین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و تشکیل ریشه در قلمه‌های انگور با توانایی ریشه‌دهی ارقام مختلف ارتباط وجود داشت و اظهار داشتند که قلمه‌های سخت ریشه‌زا فعالیت پایین‌تر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نسبت به قلمه‌های سهل ریشه‌زا را در زمان تشکیل ریشه نشان دادند. افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در طول ریشه‌زایی می‌تواند با فرایندهای چوبی شدن و یا متابولیسم فنل (Batish *et al.*, 2008) یا سطوح آب اکسیژنه (Porfirio *et al.*, 2016) مرتبط باشد. با این وجود، محققان دریافتند که آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بر تقسیم سلولی، تمایز سلولی و توسعه اولیه ریشه موثر است و نشان دادند که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز گیاهان تیمار شده با IBA در مرحله القاء افزایش، در طول مرحله آغازش کاهش و سپس در طول بیان مجدد

افزایش یافت (Coban, 2007).

سایر محققان نیز وجود تغییرات بسیار زیاد فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تشکیل ریشه ارقام سهل ریشه‌زا خرما (*Phoenix dactylifera*)، گونه‌های انگور (*Vitis sp.*) و گردو (*Juglans regia*) را نشان دادند (Cheniany *et al*., 2010; Satish *et al*., 2008; Qaddoury and Amssa, 2003). بر خلاف گور و همکاران (Gur *et al*., 1988) و بسوک و هاوارد (Bassuk and Howard, 1981) که ارتباط مثبت بین ریشه زایی، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بالا و مواد فنلی در قلمه‌های سخت ریشه‌زای سیب دارویی را نشان دادند.

نتایج آزمایش زکسکو و همکاران (Szecsko *et al*., 2004) ارتباط مستقیم بین درصد ریشه‌زایی با فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و مقدار فنل در قلمه‌های چوب سخت‌ریشه‌زای آلو مشاهده نشد. تهرانی‌فر و همکاران (Tehranifar *et al*., 2014) نیز نشان دادند که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و مقدار ترکیبات فنلی قلمه‌های تیمار نشده در زمان تشکیل ریشه کمتر از قلمه‌های تیمار شده زرشک بود. به طور کلی، می‌توان اظهار داشت که هورمون‌های گیاهی، آنزیم‌ها و ترکیبات فنلی نقش مهمی را در سازوکار کنترل داخلی ریشه‌زایی در زیتون بازی می‌کنند که ترکیبات فنلی داخلی دارای اثر متفاوتی بر ریشه‌زایی قلمه‌ها می‌باشند (Lee *et al*., 2009).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف IBA بر درصد ریشه‌زایی، کالوس‌زایی، تعداد ریشه و طول ریشه قلمه‌ها تاثیر معنی‌دار داشت. اگرچه کاربرد IBA و پوترسین به تنهایی باعث افزایش ریشه‌زایی قلمه زیتون می‌شود اما کاربرد توأم آنها علی‌رغم وجود نتایج متفاوت مورفولوژیکی و بیوشیمیایی موجب افزایش قابل توجهی در ریشه‌زایی قلمه زیتون رقم کنسروالیا شد. در قلمه‌های تیمارشده با ۴۰۰۰ قسمت در میلیون IBA که دارای بیشترین درصد ریشه‌زایی، تعداد و وزن تر ریشه و کمترین درصد کالوس‌زایی، تعداد و وزن تر شاخساره بودند، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز نیز مشاهده شد که می‌توان آنرا مرتبط با افزایش ریشه‌زایی قلمه زیتون رقم کنسروالیا دانست. این در حالی بود که نسبت کربوهیدرات به نیتروژن (C:N) انتهای قلمه رقم زیتون کنسروالیا با درصد ریشه‌زایی رابطه معکوس داشت.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهش، فناوری و ارتباط با جامعه دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین هزینه‌های این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند.

References

Al Hattab, Z. N., Abdulazez, W. A., and Al Ani, M. A. 2018. The influence of growth regulators on the rooting capacity of semi hardwood cuttings of olive *Olea europaea* L. Bioscience Research 15 (1): 412-417.

Arteca, N. R. 1996. Plant growth substances: Principles and applications. Chapman and Hall, New York. 347 pp.

Aslmoshtaghi, E., and Shahsavar, A. R. 2010. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy and difficult to root olive cuttings. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 4 (11): 83-86.

Aslmoshtaghi, E., Shahsavar, A. R., and Taslimpour, M. R. 2014. Effects of IBA and puterscine on root formation of olive cuttings. Agriculturae Conspectus Scientificus 79 (3): 191-194.

Atarzadeh, M., Abotalebi, A., and Atarzadeh, M. 2017. Effect of different hormonal treatments and rooting-cofactors on rooting of olive cultivars (Fishomi and Shiraz). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 7 (1): 49-58. (in Persian)

Bartolini G., Petrucceli R., and Pestelli P. 2008. Preliminary study on in vivo rooting of two *Olea europaea* L. genotypes. Acta Horticulturae 791: 191-195.

Bassuk, N. L., and Howard, B. H. 1981. A positive correlation between endogenous root inducing cofactor activity in vacuum-extracted sap and seasonal changes in rooting of M26 winter apple cuttings. Journal of Horticultural Science 56 (4): 301-312.

Batish, D. R., Singh, H. P. Kaur, S., Kohli, R. K., and Yadav, S. S. 2008. Caffeic acid affects early growth and morphogenetic response of hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus*). Journal of Plant Physiology 165: 297-305.

Bordbar, G. A., and Aboutalebi, A. H. 2012. Study of possibility of olive propagation by cutting- grafts during rooting. Seed and Plant Production 28 (2): 249-252.

Bradford, M. M. 1976. A radip and sensitive method for the quantitation of mincrogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Cheniany, M., Ebrahimzadeh, H., Masoudi-Nejad, A., Vahdati, K., and Leslie, C. 2010. Effect of endogenous phenols and some antioxidant enzyme activities on rooting of Persian walnut (*Juglans regia* L.). African Journal of Plant Science 4: 479-487.

Clowes, F. A. L. 1958. Protein synthesis in root meristems. Journal of Experimental Botany 9 (2): 229-238.

Coban, H. 2007. Determination of polyphenol oxidase activity during rooting in cutting of some grape varieties (*Vitis vinifera* L.). Asian Journal of Chemistry 19 (5): 4020-4024.

Dag, A., Erel, R., Ben-Gal, A., Zipori, I., and Yermiyahu, U. 2012. The Effect of olive tree stock plant nutritional status on propagation rates. Horticultural Science 47 (2): 307-310.

Denaxa, N. K., Vemmos, S. N., and Roussos, P. A. 2012. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). Scientia Horticulturae 143: 19-28.

Druege, U., Zerche, S., Kadner, R., and Ernst, M. 2000. Relation between nitrogen status, carbohydrate distribution and subsequent rooting of chrysanthemum cutting as affected by pre-harvest nitrogen supply and cold-storage. Annals of Botany 85: 687-701.

Epstein, E., and Ludwig-Muller, J. 1993. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. Physiologia Plantarum 88: 382-389.

Gur, A., Gad, A. E., and Haas, E. 1988. Rooting of apple rootstock clones as related to phenols and their oxidation. Acta Horticulturae 227: 160-166.

Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davie, F. T., and Geneve, R. L. 2001. Plant propagation, principles and practices. Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, USA. 880 pp.

Hartmann, H. T. 1946. The use of root promoting substanaces in the propagation of olive by softwood cuttings. Journal of the Ameriacan Sciety for Horticultural Science 48: 303-308.

Heloir, J. F., Kevers, C., Hausman, J. F., and Gaspar, T. 1996. Changes in the concentration of auxins and polyamines during rooting of *in vitro* propagated walnut shoots. Tree Physiology 16: 515-519.

Hemeda, H. M., and Kelin, B. P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. Journal of Food Science 55: 184-185.

Hosseini, S. M., Nourmohammadi, Z., Hosseini-Mazinani, S. M., Sadeghi, A., and Esmati, A. 2008. Effect of different media on rooting abilities of two Iranian olive cultivars. Acta Horticulturae 1 (1): 2095-2015.

Irannezhad, A., Vatanpour Azghandi, A., Rahnama, H., Jaliliani, N., and Bozorgipour, R. 2011. Improvement of rooting and adaptation of yellow olives seedling cultures using *Agrobacterium rhizogenes* and *Trichoderma harzianum*. Seed and Plant Production 26-2 (1): 85-93. (in Persian)

Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84: 67-72.

Izadi, M., Shahsavari, A. R., and Mirsoleimani, A. 1996. Relation between leaf and stem biochemical constituents and rooting ability of olive cuttings. International Journal of Horticultural Science and Technology 3 (2): 231-242.

Kar, M., and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. Plant Physiology 57: 315-319.

Karimi, M., and Moradi, H. 2017. The effect of Cutting texture type and hormonal treatment with combination rooting cofactors on rooting of yew (*Taxus baccata* L.). Iranian Journal of Forest 9 (4): 541-553. (in Persian)

Karimi, S., and Yadollahi, A. 2012. Using putrescine to increase the rooting ability of hardwood cuttings of the peach × almond hybrid GF677. Journal of Agrobiology 29 (2): 63-69.

Kevresan, S., Kovacevic, B., Cirin-Novta, V., Kuhajda, K., Kandrac, J., Pavlovic, K., and Grbovic, L. 2007. Biochemical changes in cuttings of *Robinia pseudoacacia* after treatment with naphthenate. Journal of the Serbian Chemical Society 72: 953-959.

Khoshkhoy, M. 2008. Propagation (principles and methods). Shiraz University Press. 373 pp. (in Persian)

Lazaj, A., Rama, P., and Vrapi, H. 2015. The interaction with season collection of cuttings, indol butyric acid (IBA) and juvenility factors on root induction in *olea europaea* L. (Cultivar “Kalinjot”). Journal of Engineering and Science 4 (3): 32-38.

Lee, O. H., Lee, B. Y., Lee, J., and Lee, H. B. 2009. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. Bioresource Technology 100: 6107-6113.

Ludwig-Muller, J. 2003. Peroxidase isoenzymes as markers for the rooting ability of easy-to root and difficult-to-root Gravillea species and cultivars of *Protea obstusifolia* (Proteaceae). In Vitro Cellular & Developmental Biology 39: 377-383.

Ludwig-Muller, J., Vertocnik, A., and Town, C. D. 2005. Analysis of indole-3-butyric acid-induced adventitious root formation on Arabidopsis stem segments. Journal of Experimental Botany 56 (418): 2095-2105.

Palavan, N., and Galston, A. W. 1982. Polyamine biosynthesis and titer during various developmental stages of *Phaseolus vulgaris*. Physiologia Plantarum 55: 438-444.

Paschalidis, K. A., and Roubelakis-Angelakis, K. A. 2005. Sites and regulation of polyamine catabolism in the tobacco plant. Correlations with cell division/expansion, cell cycle progression, and vascular development. Plant Physiology 138 (4): 2174-2184.

Porfirio, S., Calado, M. L., Noceda, C., Cabrita, M. J., Da Silva, M. G., Azadi, P., and Peixe, A. 2016. Tracking biochemical changes during adventitious root formation in olive (*Olea europaea* L.). Scientia Horticulturae 204: 41-53.

Qaddoury, A., and Amssa, M. 2003. Endogenous phenolic contents: peroxidase and polyphenoloxidase activities in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) offshoots related to rooting ability. Acta Physiologiae Plantarum 25: 417-421.

Reuveni, O., and Raviv, M. 1981. Importance of leaf retention to rooting avocado cuttings. Journal of American Society for Horticultural Science 106: 127-130.

Rout, G. R. 2006. Effect of auxins on adventitious root development from single node cuttings of *Camellia sinensis* L. Kuntze and associated biochemical changes. Plant Growth Regulation 48: 111-117.

Rugini, E., Di Francesco, G., Muganu, M., Astolfi, S., and Caricato, G. 1997. The effects of polyamines and hydrogen peroxide on root formation in olive and the role of polyamines as an early marker for rooting ability. Pp. 65-73. In: Altman, S., Waisel, D. (eds.): Biology of root formation and development. Plenum Publishing Co. Ltd. NewYork, USA.

Rugini, E., Politi, V., Bignami, C., Agazio, M. D., and Grego, S. 1990. Effect of polyamine treatments on rooting cutting of three olive cultivars. Acta Horticulturae 286: 97-100.

Satish, J., Raveendran, P., and Rokade, N. 2008. Changes in polyphenol oxidase activity during rooting of hardwood cuttings in three grape rootstocks under Indian condition. South African Journal for Enology and Viticulture 29: 94-97.

Scheible, W. R., Lauerer, M., Schulze, E. D., Caboche, M., and Stitt, M. 1997. Accumulation of nitrate in the shoot acts as a signal to regulate shoot-root allocation in tobacco. The Plant Journal 11: 671-691.

Sebastiani, L., and Tognetti, R. 2004. Growing season and hydrogen peroxide effects on root induction and development in *Olea europaea* L. (cvs. ‘Frantoio’ and ‘Gentile di Larino’) cuttings. Scientia Horticulturae 100: 75-82.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., and Masia, A. 2004. Lipoxygenase activity and praline accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. Physiologia Plantarum 121: 56-58.

Szecskó, V., Hrotkó, K., and Stefanovits-Bányai, E. 2004. Phenolic compounds, bud dormancy, and rooting ability of plum hardwood cuttings. Acta Horticulturae 658: 679-687.

Tehranifar, A., Mahmoody Tabar, S., Selahvarzi, Y., Balandary, A., and Kharrazi, M. 2014. Biochemical changes in barberries during adventitious root formation: the role of indole-3-butyric acid and hydrogen peroxide. Spanish Journal of Agricultural Research 12 (2): 477-485.

Turkoglu, N., and Durmus, M. 2005. A study on root formation of four olive varieties by application of hormone. Asian Journal of Plant Sciences 4 (5): 455-457.

Weaver, R. J. 1972. Plant Growth substances in agriculture. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 594 pp.

Yilmaz, H., Taskin, T., and Otludil, B. 2003. Polyphenol oxidase activity during rooting in cuttings of grape (*Vitis vinifera* L.) varieties. Turkish Journal of Botany 27: 495-498.

Yonesabadi, T., Alizadeh, M., Seifi, E., and Sadeghi, M. 2018. Evaluation of joint application of auxin and some chemical compounds to induce root in olive cuttings. Journal of Plant Production 25 (3): 41-54.

Zhang, J., Chen, S., Liu, R., Jiang, J., Chen, F., and Fang, W. 2013. Chrysanthemum cutting productivity and rooting ability are improved grafting. The Scientific World Journal: 1-7.